

嗜盐真菌多样性及其抗肿瘤活性研究*

陈显强¹, 邢楠楠^{2**}, 黄亮华¹, 高程海¹, 罗小卫¹, 刘永宏^{1**}

(1. 广西中医药大学海洋药物研究院, 广西南宁 530200; 2. 广西中医药大学, 广西中医药科学实验中心/广西中医基础研究重点实验室, 广西南宁 530200)

摘要:为探讨海盐田中的嗜盐真菌类型及其抗肿瘤作用, 采用稀释涂布法和平板划线法分离海盐田中的可培养真菌, 并基于 ITS 基因序列分析鉴定菌株, 通过 FGFR2 过表达和未过表达的肿瘤细胞增殖抑制活性以及酶联免疫吸附法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 评价真菌的抗肿瘤作用。本研究分离得到 11 种嗜盐真菌, 隶属于 3 科 4 属。真菌 *Epicoccum sorghinum* (编号 GXIMD02001) 的提取物对 FGFR2 过表达的乳腺癌细胞 MDA-MB-231-(S252W) 增殖有较强的抑制作用, 其半抑制浓度 IC₅₀ 为 11.02 μg/mL, 而对 FGFR2 未过表达乳腺癌细胞 MDA-MB-231 几乎没有抑制活性, 该提取物在 1 mg/mL 浓度下对 FGFR2 蛋白激酶活性抑制率为 91.5%; 两株真菌 (编号 GXIMD02004 和 GXIMD02009) 对 FGFR2 表达乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MDA-MB-231(S252W) 增殖抑制的 IC₅₀ 为 11.94—16.41 μg/mL; 5 株真菌的 IC₅₀ 为 219.2—449.7 μg/mL。嗜盐真菌 (编号 GXIMD02001) 是首次报道具有靶向 FGFR2 抗肿瘤作用的海洋真菌, 部分嗜盐真菌具有较好抗肿瘤作用, 本研究为北部湾海洋微生物来源的抗肿瘤药物开发利用提供科学依据。

关键词:嗜盐真菌 抗肿瘤 FGFR 海洋微生物 生物多样性

中图分类号: P745 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2020)05-0526-06

DOI: 10.13656/j.cnki.gxkx.20201231.01

0 引言

癌症是威胁人类健康的重大疾病。据统计, 2018 年全球有 1 810 万新发癌症病例和 960 万癌症死亡病例, 中国分别约占 23.7% 和 30%, 相比其他国家,

我国癌症的发病率和死亡率最高^[1], 用于恶性肿瘤的医疗费用每年超过 2 200 亿, 经济损失重大。随着人口老龄化、工业化、城市化进程的加剧以及生活方式改变等, 中国的癌症负担仍会继续增加^[2]。因此, 加强肿瘤防治相关研究, 减少肿瘤的发病率和死亡率,

* 广西八桂学者专项(05019055), 广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2019KY0309), 广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(2018BS045), 广西中医药大学海洋药物研究院团队科研专项(2018ZD005-A02)和广西中医药大学岐黄工程高层次人才团队培育项目(2018006)资助。

【作者简介】

陈显强(1983—), 男, 助理研究员, 主要从事海洋药用天然产物化学成分研究。

【**通信作者】

邢楠楠(1984—), 女, 助理研究员, 主要从事天然药物活性评价研究, E-mail: 37597931@qq.com; 刘永宏(1972—), 男, 研究员, 主要从事海洋创新药物研究, E-mail: yonghongliu@scsio.ac.cn。

【引用本文】

陈显强, 邢楠楠, 黄亮华, 等. 嗜盐真菌多样性及其抗肿瘤活性研究[J]. 广西科学, 2020, 27(5): 526-531.

CHEN X Q, XING N N, HUANG L H, et al. Study on the Biodiversity of Halophilic Fungi and Their Antitumor Activity [J]. Guangxi Sciences, 2020, 27(5): 526-531.

有助于减轻癌症负担。

海洋真菌是海洋微生物的重要类群, 因为生活在高压、高盐、低温(热液口为高温)、低光照、寡营养、低溶氧等独特环境条件中, 所以海洋真菌可产生具有特异、新颖、化学结构多样的次级代谢活性物质, 已成为化学和药学等领域关注的焦点^[3,4]。海洋真菌的代谢产物富含抗肿瘤、抗病毒、抗氧化、抗菌等活性物质^[5-9], 是药物开发的重要资源库^[10]。朱伟明教授课题组多次报道海盐田的嗜盐真菌具有结构新颖的代谢产物, 并发现多个代谢产物对肿瘤细胞有细胞毒作用^[11-14]。然而, 细胞毒药物也会对正常细胞产生毒性, 有较大的毒副作用。靶向治疗可以明显减少毒副作用, 是当前癌症治疗研究的主流趋势。成纤维细胞生长因子受体(Fibroblast Growth Factor Receptor, FGFR)过表达与肿瘤进程密切相关, 因此, 靶向FGFR治疗肿瘤成为临床研究的热点领域^[15]。为进一步探讨嗜盐真菌靶向FGFR抗肿瘤作用, 本研究从海盐田中分离嗜盐真菌, 并开展嗜盐真菌发酵提取物的抑制肿瘤细胞增殖作用研究, 发掘和评估靶向抗肿瘤的嗜盐真菌资源, 为今后全方面开展嗜盐真菌代谢产物靶向FGFR抗肿瘤研究提供依据和基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品

于2019年5月在广西北海竹林盐场的海盐田(21°44'N, 109°27'E)采集样品。采集的样品放入无菌袋中, 将无菌袋放入有冰袋的隔温箱中带回实验室, 置于-20℃冰箱保存。

1.1.2 培养基

PDA液体培养基: 马铃薯200 g, 葡萄糖20 g, 100 g海盐, 蒸馏水定容至1 000 mL, 121℃灭菌20 min。固体培养基在此基础上添加15 g琼脂。

查氏固体培养基: 硝酸钠3 g, 磷酸氢二钠1 g, 硫酸镁0.5 g, 氯化钾0.5 g, 硫酸亚铁0.01 g, 蔗糖30 g, 琼脂15 g, 100 g海盐, 蒸馏水定容至1 000 mL, 121℃灭菌20 min。

DMEM/F12(#10-092-CVR)培养基购自Corning Cellgro公司。

1.2 方法

1.2.1 真菌分离

取约2 g新鲜田泥样品, 加入2 mL无菌水, 研磨混匀, 即为样品原液; 再用无菌水依次稀释制备

10^{-2} 、 10^{-3} 和 10^{-4} 悬液, 每个浓度悬液各取0.2 mL分别涂布于PDA固体培养基和查氏固体培养基中, 置于25℃恒温培养箱培养14-30 d。第1周每天检查1次, 此后每3 d检查1次, 发现有菌丝长出时, 将其转接到另一新的平板上进行三区划线纯化, 如有杂菌则进行二次纯化或多次纯化, 直至得到单一纯净的菌落, 记录菌落数及菌落的形态特征。

1.2.2 真菌鉴定

采用Ezup柱式真菌基因组DNA抽提试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司, SK8259)提取DNA, 然后以ITS1和ITS4为引物, PCR梯度扩增ITS基因序列; 再用1%琼脂糖凝胶电泳(150 V, 100 mA, 20 min)检测PCR扩增产物, 并用Bio-RAD凝胶成像仪观察电泳结果; 检验条带合格后, 采用San-Prep柱式DNA回收试剂盒(BBI, SK8131)纯化回收DNA; 所得胶回收产物委托生工生物工程(上海)股份有限公司进行ITS rDNA测序分析; 最后用DNA Star软件整理测序结果, 并利用BLAST数据库比对ITS rDNA基因序列, 从中选取相似性较高且是有效描述的典型菌株基因序列作为参比对象。

1.2.3 真菌发酵及代谢物提取

将对数生长期的菌株接种于1 L的锥形瓶中(10 mL/瓶), 每瓶含有300 mL PDA液体培养基, 共3瓶, 25℃静止发酵30 d后收集菌丝体; 用丙酮提取菌丝体, 减压回收丙酮得到提取物, 再用乙酸乙酯萃取, 减压回收得到乙酸乙酯萃取物, 低温保存。

1.2.4 真菌代谢物抑制肿瘤细胞增殖活性检测

取对数生长期的乳腺癌细胞MDA-MB-231和FGFR2过表达的乳腺癌细胞MDA-MB-231(S252W), 用DMEM/F12培养基(含10% FBS)稀释至密度为 $(3-5) \times 10^4$ 个/mL, 再分别接种至96孔板中, 每孔100 μ L, 37℃孵育过夜。配置含5 mg/mL提取物的培养基, 倍比稀释10个浓度作为给药浓度, 并设定0.2%二甲亚砜(DMSO)对照组(阴性对照), 设3个复孔。培养48 h后, 每孔加入10 μ L Cell Counting Kit-8 (CCK-8)试剂, 置于37℃培养箱中放置2 h。用微孔板酶标仪读数, 测定波长为450 nm。抑制率(%) = $[(OD_{\text{对照}} - OD_{\text{给药}}) / OD_{\text{对照}}] \times 100\%$ 。

1.2.5 真菌代谢物抑制FGFR2蛋白激酶活性检测

用酶联免疫吸附法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)^[16]检测真菌乙酸乙酯萃取物对FGFR2酪氨酸激酶活性的抑制。以Poly

(Glu, Tyr) 4 : 1 为反应底物, 将其包埋在酶标板后, 在酶标板的对应样品孔加入 1 μ L 待测试样品 (1 mg/mL), 相应的阴性对照孔加 DMSO, 设 5 个复孔; 每孔加上 50 μ L 反应缓冲液稀释的 FGFR2 激酶 (空白对照中用反应缓冲液代替激酶溶液); 再加入 5 μ mol/L ATP 溶液 50 μ L 启动反应, 在 37 $^{\circ}$ C、100 r/min 条件下反应 1 h; T-PBS 洗板 3 次, 加入抗体 PY99, 37 $^{\circ}$ C 下反应 0.5 h; 无钾 PBS 洗板 3 次, 加入辣根过氧化物酶标记的抗鼠 IgG, 37 $^{\circ}$ C 下反应 0.5 h; 最后通过邻苯二胺 (OPD) 显色 (25 $^{\circ}$ C 避光反应) 10 min, 终止反应, 于 490 nm 波长测 OD 值, 并按照以下公式计算抑制率: 样品的抑制率 (%) = [1 -

表 1 11 种可培养真菌的物种组成

Table 1 Species composition of 11 culturable fungi

菌株编号 Strain code	近似种 Similar species	ITS rRNA 基因序列相似性 ITS rRNA sequence identity (%)
GXIMD02011	<i>Alternaria alternata</i> strain HLG202018	99.81
GXIMD02012	<i>Aspergillus flavus</i> clone EF-533	100.00
GXIMD02010	<i>A. tamarii</i> strain MS-Deb-PCB3F	99.12
GXIMD02004	<i>A. versicolor</i> isolate F	100.00
GXIMD02001	<i>Epicoccum sorghinum</i>	100.00
GXIMD02009	<i>Penicillium citrinum</i> strain NSF4	99.40
GXIMD02013	<i>P. meleagrimum</i> var. <i>viridiflavum</i>	99.12
GXIMD02006	<i>P. janthinellum</i> strain MSEF36	99.63
GXIMD02005	<i>P. oxalicum</i> strain WZ-288	100.00
GXIMD02008	<i>P. oxalicum</i> isolate C7-8	99.82
GXIMD02007	<i>Penicillium</i> sp. PK-2012	99.65

2.2 真菌发酵产物抗肿瘤活性分析

各个菌株发酵产物的乙酸乙酯萃取物抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 FGFR2 过表达的乳腺癌细胞 MDA-MB-231 (S252W) 增殖活性结果如表 2 所示, 可知菌株 *E. sorghinum* (编号 GXIMD02001) 的提取物对 FGFR2 过表达的乳腺癌细胞 MDA-MB-231 (S252W) 有较强的抑制, 其半抑制浓度 (Half Maximal Inhibitory Concentration, IC₅₀) 为 11.02 μ g/mL, 而对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 几乎没有抑制活性 (IC₅₀ 为 1 348 μ g/mL)。该实验结果表明真菌 *E. sorghinum* (编号 GXIMD02001) 可能是通过靶向 FGFR2 发挥抗肿瘤作用。其他菌株提取物对 FGFR2 过表达和未过表达的乳腺癌细胞增殖抑制活性未显示差异。两株真菌 *A. versicolor* (编号 GXIMD02004) 和 *P. citrinum* (编号 GXIMD02009) 对乳腺癌细胞 MDA-MB-231 (S252W) 和 MDA-MB-231 的 IC₅₀ 为 11.94—16.41 μ g/mL, 具有较显著抗肿瘤活性作用。5 株真菌 *P. oxalicum* (编号 GX-

(OD_{样品} - OD_{空白}) / (OD_{阴性对照} - OD_{空白})] \times 100%。

2 结果与分析

2.1 海盐田的真菌多样性分析

共分离得到 26 株菌, 根据菌落形态特征差异进行初步排重后, 所得 13 株菌进行 ITS rRNA 基因扩增和序列分析。基于 BLAST 数据库的比对结果 (表 1), 被测菌株属于 11 个不同种, 分布于 2 纲 2 目 3 科 4 属。青霉菌属 (*Penicillium*) 为优势菌属, 含有 6 种, 占分离种的 54.54%, 其次是曲霉属 (*Aspergillus*) 菌株含有 3 种, 链格孢菌属 (*Alternaria*) 和附球菌属 (*Epicoccum*) 各有 1 种。

IMD02005)、*P. janthinellum* (编号 GXIMD02006)、*P. oxalicum* (编号 GXIMD02008)、*A. alternata* (编号 GXIMD02007) 的提取物抑制肿瘤细胞增殖活性

Table 2 Extracts of different fungi inhibit the proliferation of tumor cells

样品 Sample	IC ₅₀ (μ g/mL)	
	MDA-MB-231	MDA-MB-231 (S252W)
GXIMD02001	1 348.00	11.02
GXIMD02004	16.41	11.94
GXIMD02005	335.00	386.70
GXIMD02006	475.20	449.70
GXIMD02007	788.10	634.20
GXIMD02008	396.90	290.90
GXIMD02009	13.28	12.36
GXIMD02010	741.80	437.20
GXIMD02011	294.50	219.20
GXIMD02012	1 292.00	1 194.00
GXIMD02013	325.80	404.00

号 GXIMD02011) 和 *P. meleagrinum* (编号 GXIMD02013) 具有较弱的抗乳腺癌作用, IC_{50} 为 219.2—449.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

2.3 FGFR2 蛋白激酶抑制活性分析

用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测菌株 *E. sorghinum* (编号 GXIMD02001) 发酵产物的乙酸乙酯萃取物, 在 1 mg/mL 浓度下对 FGFR2 激酶的抑制活性, 结果其抑制率为 91.5%。该结果从酶水平进一步证明菌株 *E. sorghinum* (编号 GXIMD02001) 是通过靶向 FGFR2 发挥抗肿瘤作用。

3 讨论

FGFR 是酪氨酸激酶家族重要成员之一, 是一类单跨膜糖蛋白分子, 主要包括 FGFR1、FGFR2、FGFR3 和 FGFR4 4 种亚型, 由于 *FGFR* 基因突变和扩增导致 FGFR 蛋白激酶过表达, FGFR 持续激活从而诱导肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移, 促进血管生成以及肿瘤的发生发展^[17]。FGFR2 过表达能够激活下游关键的信号通路, 与乳腺癌的发生发展密切相关^[18]。

已上市和临床在研的 FGFR 小分子抑制剂可分为多靶点抑制剂与选择性 FGFR 抑制剂。多靶点抑制剂如已上市药物 Ponatinib、Nintedanib、Dovitinib 和 Lenvatinib 均靶向于 FGFR、VEGFR 和 PDGFR 等多个激酶靶点^[19-22]。这些多靶点 FGFR 抑制剂存在严重的毒副作用, 主要是因其抑制 VEGFR 而引起高血压、蛋白尿、胃肠病变和皮肤反应等^[23]。与多靶点 FGFR 抑制剂相比较, 选择性 FGFR 抑制剂更加选择性地靶向抑制 FGFR, 利于疗效的发挥, 规避多靶点 FGFR 抑制剂的毒性反应, 更符合当下精准医疗的个性化用药的需求。2019 年美国 FDA 加速批准的 Pan-FGFR 抑制剂 Erdafitinib, 可用于治疗局部晚期或转移性膀胱癌, 是首个获批上市的选择性 FGFR 抑制剂^[24]。目前, 仅有少量选择性 FGFR 抑制剂进入临床研究, 包括 3 个临床三期 (TAS-120、NVP-BGJ398 和 AZD4547), 1 个临床二期和 4 个临床一期^[25]。

本研究从北部湾海洋高盐环境中发现若干株具有抗肿瘤活性的真菌, 其中, 真菌 *E. sorghinum* (编号 GXIMD02001) 对 FGFR2 过表达乳腺癌细胞有抑制增殖作用, 并在酶水平上进一步验证其可能靶向 FGFR2 蛋白激酶发挥抗肿瘤作用, 是首次报道海洋

真菌靶向 FGFR2 抗肿瘤作用, 对后续靶向抗肿瘤活性分子的挖掘具有重要的意义。然而, 目前的研究对象是提取物, 其具体的药效物质基础还不清楚, 需要借助多学科交叉技术, 结合化学信息和生物活性评价, 充分阐明其靶向 FGFR2 抗肿瘤药效的物质基础。深入研究这些菌株的代谢产物将有利于北部湾海洋药用资源的开发和利用, 有助于抗肿瘤先导化合物的发现, 帮助人类对抗恶性肿瘤的威胁以及减轻经济负担。

4 结论

本研究从高盐环境中分离得到 26 株嗜盐真菌, 经初步排重后获得 13 株菌, 分子鉴定结果显示隶属于 3 科 4 属 11 种, 其中青霉菌属菌株 (*Penicillium*) 为优势菌群。真菌 *E. sorghinum* (编号 GXIMD02001) 靶向 FGFR2 发挥抗肿瘤作用, 这是首次报道海洋真菌具有靶向 FGFR2 抗肿瘤作用。真菌 *A. versicolor* (编号 GXIMD02004) 和 *P. citrinum* (编号 GXIMD02009) 显著抑制乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 MDA-MB-231 (S252W) 增殖。5 株真菌 *P. oxalicum* (编号 GXIMD02005)、*P. janthinellum* (编号 GXIMD02006)、*P. oxalicum* (编号 GXIMD02008)、*A. alternata* (编号 GXIMD02011) 和 *P. meleagrinum* (编号 GXIMD02013) 具有较弱的抗乳腺癌作用。本研究为北部湾海洋微生物资源的抗肿瘤药物开发利用奠定基础。

参考文献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] 曹毛毛, 陈万青. 中国恶性肿瘤流行情况及防控现状 [J]. 中国肿瘤临床, 2019, 46(3): 145-149.
- [3] BARZKAR N, JAHROMI S T, POORSAHELI H B, et al. Metabolites from marine microorganisms, micro, and macroalgae: Immense scope for pharmacology [J]. Marine Drugs, 2019, 17(8): 464. DOI: 10.3390/md17080464.
- [4] 付逸群, 于颖敏, 马瑞遥, 等. 海洋来源真菌生物活性物质研究进展 [J]. 山东化工, 2019, 48(22): 63-65, 67.
- [5] DESHMUKH S K, PRAKASH V, RANJAN N. Marine fungi: A source of potential anticancer compounds [J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 8: 2536. DOI: 10.3389/

- fmich. 2017. 02536.
- [6] DESHMUKH S K, GUPTA M K, PRAKASH V, et al. Mangrove-associated fungi: A novel source of potential anticancer compounds [J]. *Journal of Fungi*, 2018, 4(3): 101. DOI: 10. 3390/jof4030101.
- [7] FAN M Q, NATH A K, TANG Y J, et al. Investigation of the anti-prostate cancer properties of marine-derived compounds [J]. *Marine Drugs*, 2018, 16(5): 160. DOI: 10. 3390/md16050160.
- [8] WANG W H, PARK C, OH E, et al. Benzophenone compounds, from a marine-derived strain of the fungus *pestalotiopsis neglecta*, inhibit proliferation of pancreatic cancer cells by targeting the mek/erk pathway [J]. *Journal of Natural Products*, 2019, 82(12): 3357-3365.
- [9] DU L, FENG T, ZHAO B, et al. Alkaloids from a deep ocean sediment-derived fungus *Penicillium* sp. and their antitumor activities [J]. *The Journal of Antibiotics*, 2010, 63(4): 165-170.
- [10] JIN L M, QUAN C S, HOU X Y, et al. Potential pharmacological resources: Natural bioactive compounds from marine-derived fungi [J]. *Marine Drugs*, 2016, 14(4): 76. DOI: 10. 3390/md14040076.
- [11] ZHENG J K, WANG Y, WANG J F, et al. Antimicrobial ergosteroids and pyrrole derivatives from halotolerant *Aspergillus flocculosus* PT05-1 cultured in a hypersaline medium [J]. *Extremophiles*, 2013, 17(6): 963-971.
- [12] WANG Y, ZHENG J K, LIU P P, et al. Three new compounds from *Aspergillus terreus* PT06-2 grown in a high salt medium [J]. *Marine Drugs*, 2011, 9(8): 1368-1378.
- [13] ZHENG J K, ZHU H J, HONG K, et al. Novel cyclic hexapeptides from marine-derived fungus, *Aspergillus sclerotiorum* PT06 - 1 [J]. *Organic Letters*, 2009, 11(22): 5262-5265.
- [14] WANG W L, ZHU T J, TAO H W, et al. Two new cytotoxic quinone type compounds from the halotolerant fungus *Aspergillus varicolor* [J]. *The Journal of Antibiotics*, 2007, 60(10): 603-607.
- [15] 谢静文, 刘群鹏, 郑智伟, 等. FGFR 抑制剂的研究进展 [J]. *生物产业技术*, 2018(5): 52-68.
- [16] 孙长安, 房雷, 苟少华. FGF401 构效关系研究发现一种新颖的 FGFR4 选择性抑制剂(英文) [J]. *有机化学*, 2020, 40(1): 84-94.
- [17] KATO H M. Fibroblast growth factor receptors as treatment targets in clinical oncology [J]. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 2019, 16(2): 105-122.
- [18] LEI H P, DENG C X. Fibroblast growth factor receptor 2 signaling in breast cancer [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2017, 13(9): 1163-1171.
- [19] ROSKOSKI R. Properties of FDA-approved small molecule protein kinase inhibitors: A 2020 update [J]. *Pharmacological Research*, 2020, 152: 104609. DOI: 10. 1016/j. phrs. 2019. 104609.
- [20] GOZGIT J M, WONG M J, MORAN L, et al. Ponatinib (AP24534), a multitargeted pan-FGFR inhibitor with activity in multiple FGFR-amplified or mutated cancer models [J]. *Molecular Cancer Therapeutics*, 2012, 11(3): 690-699.
- [21] VARONE F, SGALLA G, IOVENE B, et al. Nintedanib for the treatment of idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 2018, 19(2): 167-175.
- [22] SUYAMA K, IWASE H. Lenvatinib: A promising molecular targeted agent for multiple cancers [J]. *Cancer Control*, 2018, 25(1): 31-34. DOI: 10. 1177/ 1073274818789361
- [23] GHEDINI G C, RONCA R, PRESTA M, et al. Future applications of FGF/FGFR inhibitors in cancer [J]. *Expert Review of Anticancer Therapy*, 2018, 18(9): 861-872.
- [24] MARKHAM A. Erdafitinib: First global approval [J]. *Drugs*, 2019, 79(9): 1017-1021.
- [25] LIU F T, LI N G, ZHANG Y M, et al. Recent advance in the development of novel, selective and potent FGFR inhibitors [J]. *European Journal of Medical Chemistry*, 2020, 186: 111884. DOI: 10. 1016/j. ejmech. 2019. 111884.

Study on the Biodiversity of Halophilic Fungi and Their Antitumor Activity

CHEN Xianqiang¹, XING Nannan², HUANG Lianghua¹, GAO Chenghai¹, LUO Xiaowei¹,
LIU Yonghong¹

(1. Institute of Marine Drugs, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China; 2. Guangxi Key Laboratory of Chinese Medicine Foundation Research, Guangxi Scientific Experimental Center of Traditional Chinese Medicine, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning, Guangxi, 530200, China)

Abstract: In order to investigate the types of halophilic fungi from the sea salt fields and their antitumor effects, the cultivable fungi in the sea salt fields were separated by the dilution coating and plate streaking methods, and the strain identification was carried out by the ITS gene sequence analysis. The anti-tumor effect of fungi was evaluated by FGFR2 over-expression of tumor cell proliferation inhibitory activity and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). In this study, 11 species of halophilic fungi were isolated and belonged to 3 families and 4 genera. The extracts of the fungus *Epicoccum sorghinum* (No. GXIMD02001) showed a strong anti-proliferative inhibitory effect on FGFR2 overexpressed breast cancer cells with an IC_{50} of 11.02 $\mu\text{g}/\text{mL}$ but had almost no inhibitory activity on FGFR2 breast cancer cell MDA-MB-231. The extracts of *Epicoccum sorghinum* (No. GXIMD02001) exhibited the inhibition rate of 91.5% against FGFR2 protein kinase at the concentration of 1 mg/mL. The IC_{50} of the 2 fungi (No. GXIMD02004 and GXIMD02009) on the proliferation of FGFR2 breast cancer cells MDA-MB-231 and MDA-MB-231(S252W) was 11.94–16.41 $\mu\text{g}/\text{mL}$. The IC_{50} of the 5 fungi is 219.2–449.7 $\mu\text{g}/\text{mL}$. It is concluded that the halophilic fungus (No. GXIMD02001) is the first marine fungus reported to have anti-tumor effects targeting the FGFR2. Parts of halophilic fungi exhibit good anti-tumor effect. This study provides scientific basis for the development and utilization of anti-tumor drugs from marine microbiological resources of Beibu Gulf.

Key words: halophilic fungi, antitumor, FGFR, marine microbe, biodiversity

责任编辑: 陆雁



微信公众号投稿更便捷

联系电话: 0771-2503923

邮箱: gxxk@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxxk.ijournal.cn/gxxk/ch>